

Celem takich badań jest wykazanie, które parametry metody pomiarowej powinny być ściśle przestrzegane, a które, przypadkowo zmienne, mają nieistotny wpływ na wynik oznaczenia.

## 5.7. Granica wykrywalności i granica oznaczalności

Intuicyjnie w analizach rutynowych granica wykrywalności (*detection limit*) jest wiązana z najmniejszym stężeniem, które można wykryć daną metodą. Natomiast zgodnie z zaleceniem IUPAC (Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej) jest to najmniejsze stężenie (lub ilość) substancji, któremu odpowiada sygnał różniący się statystycznie (istotnie) od sygnału ślepej próby. Granica oznaczalności (*quantification limit*) z kolei jest wiązana z najmniejszym stężeniem, które można oznaczyć daną metodą.

Definicja granicy wykrywalności przyjęta przez IUPAC umożliwia różne podejścia matematyczne w celu wyrażenia jej w postaci liczbowej. Jednym ze sposobów, wynikającym wprost z przyjętej definicji, jest wyznaczanie granicy wykrywalności oraz oznaczalności na podstawie analizy ślepej próby, tj. próbki pozbawionej analitu. Sygnał analityczny  $y_l$  odpowiadający granicznemu stężeniu  $c_l$  jest równy sygnałowi analitycznemu pochodzącemu od ślepej próby powiększonemu o wielokrotność jego odchylenia standardowego  $s_{sp}$ , czyli

$$y_l = \bar{y}_{sp} + ps_{sp} \quad (5.28)$$

gdzie:  $\bar{y}_{sp}$  – średni sygnał uzyskany dla ślepej próby,  $s_{sp}$  – odchylenie standardowe serii powtórzonych pomiarów sygnału dla ślepej próby, a  $p$  jest stałą.

W sytuacji, gdy nie dysponujemy ślepą próbą, bardzo dogodnym narzędziem do wyznaczania granic wykrywalności i oznaczalności jest prostoliniowa krzywa kalibracyjna. Współczynnik przecięcia  $b$  tej zależności interpretujemy jako wartość sygnału analitycznego odpowiadającą zerowej wartości stężenia analitu, czyli hipotetycznej ślepej próbce. Współczynnik  $b$  oraz jego odchylenie standardowe pozwalają więc oszacować graniczny sygnał analityczny zgodnie z równaniem (5.28)

$$y_l = b + ps_b \quad (5.29)$$

gdzie:  $s_b$  – odchylenie standardowe współczynnika przecięcia krzywej kalibracyjnej (równanie (4.9) lub (4.25) lub (4.39) w zależności od wariantu metody regresji liniowej).

Korzystając z równania krzywej kalibracyjnej wielkość  $y_l$  można określić równaniem  $y_l = a c_l + b$ . Po połączeniu go z równaniem (5.29) otrzymamy, po prostych przekształceniach, wyrażenie na stężenie graniczne,  $c_l$ , określające granicę wykrywalności i oznaczalności. Przyjmuje ono ostatecznie następującą postać:

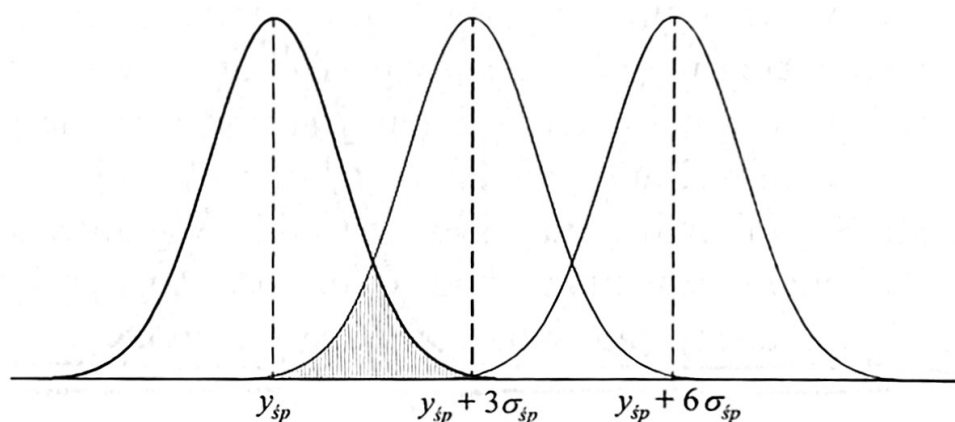
$$c_l = \frac{ps_b}{a} \cong \frac{ps_{y/x}}{a} \quad (5.30)$$

gdzie:  $a$  jest współczynnikiem nachylenia krzywej kalibracyjnej (miarą czułości metody), a  $s_{y/x}$  reprezentuje resztowe odchylenie standardowe.

Do wyznaczania granic wykrywalności i oznaczalności wykorzystuje się też analizę stosunku sygnału do szumu. W tym przypadku wyrażenie na stężenie graniczne  $c_l$  można przedstawić jako [1]

$$c_l = \frac{pc_0 s_{sp}}{y_a} \quad (5.31)$$

gdzie:  $c_0$  jest stężeniem odpowiadającym sygnałowi analitu  $y_a$ , a  $s_{sp}$  jest odchyleniem standardowym poziomu tła/szumu lub ślepej próby.



**Rys. 5.6.** Rozkłady normalne sygnału analitycznego dla ślepej próby  $y_{sp}$  oraz hipotetycznych próbek, w których zawartość analitu jest przesunięta względem ślepej próby odpowiednio o 3 oraz 6 odchylen standardowych ślepej próby ( $\sigma_{sp}$ )

Przedstawione sposoby szacowania granicy wykrywalności i oznaczalności są równocenne w sensie statystycznym. Pewnym problemem jest przyporządkowanie odpowiedniej wartości liczbowej stałej  $p$ . Dla granicy wykrywalności zwykle przyjmuje się  $p = 3$ , ale nie jest to idealne rozwiązanie. Przeprowadźmy analizę wpływu wartości  $p$  na granicę wykrywalności na podstawie równania (5.28) zilustrowaną na rysunku 5.6. Na rysunku tym znajduje się rozkład normalny wyników pomiaru sygnału analitycznego dla ślepej próby i dwa rozkłady normalne wyników pomiaru sygnałów dla próbek zawierających ilości analitu odpowiadające  $3\sigma_{sp}$  oraz  $6\sigma_{sp}$  [20] ( $\sigma_{sp}$  reprezentuje odchylenie standardowe populacji wyników dla ślepej próby; jego estymatorem jest odchylenie standardowe serii powtórzonych wyników  $s_{sp}$ ). Widać wyraźnie, że jeżeli ilość analitu rzeczywiście wynosi  $\bar{y}_{sp} + 3\sigma_{sp}$ , to w 50% przypadków sygnał analityczny jest na tyle mały, że traktuje się go jak pochodzący od ślepej próby. Dlatego rozsądniej jest przyjąć  $p = 6$ . Z kolei, aby mówić o granicy

oznaczalności, wartość liczbowa  $p$  należy jeszcze bardziej zwiększyć. Zwykle przyjmuje się do określenia granicy oznaczalności  $p = 10$ .

## 5.8. Szacowanie niepewności pomiaru

Etap szacowania niepewności, szczegółowo przedstawiony w rozdziale 2, jest nie przypadkowo ostatnim krokiem walidacji metody pomiarowej. Wykorzystuje on bowiem w dużym stopniu ilościowe informacje zdobyte we wcześniejszych etapach walidacji, w szczególności uzyskane podczas badania powtarzalności i odtwarzalności oraz obciążenia wyników pomiaru. Warto zatem pamiętać, że efektem walidacji metody pomiarowej nie jest zestaw rozłącznych charakterystyk metody, ale spójna całość wydobyta za pomocą właściwie zaprojektowanych eksperymentów i wyselekcjonowanych narzędzi statystycznych. Proces walidacji z szacowaniem niepewności metody pomiarowej jest podstawowym ogniwem kontroli jakości pomiarów służącej do oceny wiarygodności prowadzonych badań.

## 5.9. Studia przypadków

W tym podrozdziale przedstawiono szczegółowe opracowania dotyczące walidacji i szacowania niepewności metod pomiarowych stosowanych w różnych obszarach badawczych oraz laboratoriach o różnych profilach działalności.

Pierwszy przykład „Paliwa stałe – wyznaczanie parametrów fizykochemicznych” obejmuje zestaw instrumentalnych metod w zakresie chemii fizycznej i fizykochemii, które rutynowo są stosowane w elektrowniach, elektrociepłowniach oraz w przemyśle wydobywczym. Ukazuje sposób szacowania niepewności pomiarów quasi-bezpośrednich z wykorzystaniem skróconych schematów walidacji. Drugi przykład „Oznaczanie chemicznego zapotrzebowania tlenu (ChZT)” obrazuje klasyczną metodę analityczną polegającą na miareczkowaniu, która ma szerokie zastosowanie w laboratoriach środowiskowych, wodnych, kanalizacyjnych czy sanitarno-epidemiologicznych. Ilustruje zastosowanie metody modelowania do konstrukcji budżetu niepewności metody pomiarowej. Trzeci przykład „Oznaczanie włókna surowego w paszach” opisuje pozornie prostą metodę wagową. Istotą tego przykładu jest ukazanie schematu postępowania w przypadku metod zawierających spory wkład tzw. etapów „nieilościowych” (takich jak: roztwarzanie w kwasach i zasadach, suszenie czy spopielenie), trudnych do jednoznacznego ujęcia w modelu pomiaru. Szacowanie niepewności jest oparte na skonstruowanym empirycznie równaniu modelowym, wykorzystującym efekty badań odporności metody na niewielkie zmiany kluczowych warunków prowadzenia oznaczeń. Przykład ten wpisuje się w obszar chemii rolniczej i może być szczególnie interesujący dla laboratoriów inspektoratów weterynaryjnych lub stacji chemiczno-rolniczych.